

Aus der Chirurgischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. G. Hegemann

Untersuchungen zur Katalaseaktivität im Lebergewebe

inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Werner Heinz Georg Weiß
aus Erlangen

1976 # 387



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546228_0126

Aus der Chirurgischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. G. Hegemann

Untersuchungen zur Katalaseaktivität im Lebergewebe

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Werner Heinz Georg Weiß
aus Erlangen

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer

Referent: Priv.-Doz. Dr. J. von der Emde

Korreferent: Prof. Dr. G. Hegemann

Tag der mündlichen Prüfung: 11. Oktober 1976

Hiermit danke ich Herrn Prof. Dr. med. H. Bunte für die freundliche Überlassung des Themas.

Ferner danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit Prof. Dr. phil. nat. H. J. Horstmann und Dr. med.

G. Wittrin.

GLIEDERUNG

- I. Einleitung
- II. Untersuchungen und Ergebnisse einiger Autoren
bezüglich der Katalase
- III. Meß- und Auswertungsmethoden
 - A. Messung
 - B. Auswertung
 - B 1. Bedeutung und Schwierigkeit der "k"-Bestimmung
 - B 2. Fehlerbetrachtungen
 - C. Statische Berechnung
- IV. Eigene Untersuchungen
 - A. Bestimmung der Leberkatalaseaktivität bei Probe-
exzisionen
 - B. Bestimmung der Katalaseaktivität bei Stanzbiopsien
- V. Diskussion
- VI. Zusammenfassung
- VII. Literatur

I. Einleitung

Bei zahlreichen experimentellen und vereinzelt klinischen Untersuchungen konnte bisher eine Verminderung der Leberkatalaseaktivität bei Tumorträgern bestätigt werden. Neben der Hemmung bzw. Verminderung der Katalasesynthese wird ein schnellerer Abbau der Leberkatalase, die Bildung von Katalaseinhibitoren in der Geschwulstzelle und eine Änderung der intrazellulären Verteilung infolge von Störungen in der Membranpermeabilität diskutiert.

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, inwieweit sich die Depression der Katalaseaktivität bei Tumorträgern an einem größeren Krankengut bestätigen läßt und welche gutartigen Erkrankungen, die ebenfalls eine Depression der Katalaseaktivität bedingen, differentialdiagnostisch davon abzugrenzen sind. Die Bestimmung der Leberkatalaseaktivität erfolgte nach der spektral-photometrischen Methode. Das Lebergewebe wurde durch Probeexcision während der Laparotomie und auf dem Wege der Leberblindpunktion mit der Menghininadel gewonnen. Bei den Punktionszylindern stand nur etwa ein Fünfzehntel der Masse für die Aufarbeitung zur Verfügung. Das ursprüngliche Verfahren mußte deshalb in Bezug auf die einzelnen Reagenzvolumina in sinnvoller Weise abgewandelt werden.

II. Untersuchungen und Ergebnisse einiger Autoren bezüglich der Katalase

O. Loew berichtete 1901 über ein besonders weit verbreitetes Enzym mit der Fähigkeit, Wasserstoffperoxid (H_2O_2) zu spalten. Er nannte das in fast allen Tier- und Pflanzenzellen vorkommende Enzym Katalase.

Die Katalase, auch H_2O_2 - H_2O_2 -Oxidoreduktase genannt, ist ein in der Natur weit verbreitetes Enzym. Es enthält vier Ferriprotoporphyringruppen pro Molekül (Molekulargewicht: 240000), was einem Eisengehalt von 0,09%, und einem Protohämingehalt von 1,1% entspricht. Die Katalase kommt in den Zellen zumeist partikelgebunden vor, und zwar in den Mitochondrien und Peroxisomen.

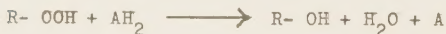
Im Erythrozyten liegt sie in freier Form vor.

Sie katalysiert folgende Reaktionen:

1, Zerlegung von H_2O_2 in H_2O und O_2



2, Oxidation von H-Donatoren wie zum Beispiel
Methanol und Äthanol



Über die Katalase sind bereits mehrere Anreicherungsverfahren beschrieben worden (5-11).

Aus Rinderleber wurde die Katalase erstmals 1937 von Summer und Dounce kristallisiert (12). Dann gewannen Bonnicksen, Herbert und Pinsent, Laskowski und Sumner, sowie Agner das Enzym aus Blut (13-16). Die Aktivität der Katalase in den einzelnen Geweben variiert sehr stark. Am höchsten ist sie in Leber und Niere, am geringsten im Bindegewebe (2).

Seit 1912 ist bekannt, daß die Katalaseaktivität in post mortem un-

tersuchtem Krebsgewebe stark vermindert, der Peroxidgehalt dagegen sehr hoch ist(3). Später konnte in mehreren Untersuchungen festgestellt werden, daß die Aktivität im Lebergewebe von Trägern maligner Tumoren Veränderungen im Sinne einer Depression erfahren hat. Die Leber von Tieren mit experimentell erzeugten Tumoren wies eine Katalaseaktivität auf, die etwa einem Drittel bis zu einem Viertel der Norm entspricht. Die Wirkung eines Malignoms auf die Aktivität der Katalase ist reversibel. Bei Exstirpation bzw. spontaner Rückbildung kommt es innerhalb von 24 Stunden zu einer Normalisierung des Katalasespiegels. Inokulation eines zweiten Tumors führte erneut zu einem Abfall und auch dessen Exstirpation zu einer Normalisierung des Katalaseniveaus. Von Einfluß waren immer Art und Größe des Tumors und der Ort der Inokulation(3).

Nach Greenstein und Andervont (1942, 1943) ist die Aktivitätsminderung der Anwesenheit der wachsenden Geschwulst selbst, nicht aber anderen, von ihr induzierten Erscheinungen zuzuschreiben.

Schon 1958 wurden von Nakahara und Fukuoka ein sog. "Katalasefaktor" und vor allem die Bildung eines "Toxohormons" diskutiert.

Die Wirkung dieses "Toxohormons" beruht auf einer Verhinderung der Synthese der Katalase in der Zelle(20).

Im Rahmen dieser Untersuchungen ergab sich, daß nekrotische Anteile eines Tumors gegenüber frischen, nicht nekrotisierten bezüglich der Produktion des Toxohormons kaum Wirkung zeigten. Es wird darauf hingewiesen, daß dieses "Hormon" als chemischer Stoff nicht spezifisch für Karzinomzellen ist, sondern auch von gesunden produziert wird. Nur wird diese Substanz hier in ganz geringfügigen Mengen gebildet, die möglicherweise nur eine Konstanz des Katalasespiegels in der gesunden Zelle erhalten soll. Erst nach maligner Entartung von Zellen kommt es zu einer überschießenden Produktion an "Toxohormon", was einen Aktivitätsabfall der Katalase zur Folge hat.

Die Katalase, die eng verknüpft ist mit aeroben Vorgängen in der gesunden Zelle, ist in Karzinomzellen kaum noch nachweisbar. Der Grund hierfür liegt wahrscheinlich darin, daß die Katalase für maligne

Zellen, die unter anderem auch dadurch ausgezeichnet sind, daß sie fast ausschließlich anaerobe Glykolyse betreiben, als "unbrauchbar" anzusehen ist. Inwieweit diese Vorgänge im Rahmen einer malignen Entartung miteinander gekoppelt sind und weshalb das "Toxohormon", das auf dem Blutweg transportiert wird, fast keine Veränderung der Blutkatalaseaktivität bewirkt und von den Organ-Katalasen nahezu nur die der Leber vermindert, gilt als noch ungeklärt(20). Die Zusammensetzung des "Toxohormons" ist genau bekannt. Es handelt sich dabei um ein kleines Molekül, dessen Reindarstellung bereits soweit vorangeschritten ist, daß es, in Dosen von 0,1-0,2 mg verabreicht, einen deutlichen Effekt zeigt(3).

Das aus Bestandteilen der Analyse des Toxohormons synthetisierte Produkt hatte zwar den gleichen Erfolg wie das aus dem Tumorgewebe isolierte, seine Wirkung auf die Katalase hält aber nur einige Tage an.

In Gruppe I und II lagen die Werte zwischen 6 und 40 Einheiten, in Gruppe III zwischen 24 und 60 Einheiten.

Der Unterschied zwischen den Ergebnissen bei Patienten mit und ohne malignen Tumoren ist statistisch signifikant (19).

Es wurde weiterhin beschrieben, daß andererseits auch bei sechs Patienten ohne Tumoren die Leberkatalase vermindert war. Es handelte sich dabei allerdings, bis auf einen Patient mit radiologisch geheiltem Cervix-Ca, um solche mit entzündlichen Prozessen im portalen Bereich (19).

Schließlich konnte noch nachgewiesen werden, daß auch entzündliche und degenerative Prozesse des Leberparenchyms einen Katalaseabfall bewirken (21).

Von Kiyota Oh-Uti (22) wurden Leberproben von Patienten mit 1 Cardia-Ca 2 Ampulla-Vatari-Karzinomen und 24 Magen- oder Duodenalulcera auf ihre Katalaseaktivität hin untersucht.

Auch hierbei ergab sich, daß der Katalasewert bei Karzinompatienten deutlich niedriger lag, als bei Ulcusträgern.

Daneben wurden die ermittelten Werte noch im Hinblick auf die Art des operativen Eingriffs und auf Größe und Ausdehnung des Tumors hin miteinander verglichen;

Dabei konnten aber keine nennenswerten Abweichungen festgestellt werden.

T. Ohnuma, G. Mardia und J. F. Holland (23) untersuchten die Aktivität der Leberkatalase bei nichtnarkotisierten Patienten, wobei das Gewebe durch die Nadelbiopsie gewonnen und die Geschwindigkeitskonstante ebenfalls spektralphotometrisch bestimmt wurde.

10 gesunde, männliche Strafgefangene, 59 mit fortgeschrittenen Karzinomen und 60 Leichen mit einem Karzinom wurden kurz nach ihrem Tod in dieser Weise untersucht. Es ergab sich eine große Streubreite der Katalaseaktivitäten bei Kontrollpatienten; bei solchen, die an Krebs gestorben waren, betrug sie jedoch - bezogen auf 1 g Leberstickstoff - nur annähernd 40 % derer von gesunden.

Nach Auswertung einer Reihe von Biopsien war zu erkennen, daß fortschreitende Karzinome mit zunehmender klinischer Verschlechterung mit einer abnehmenden Katalaseaktivität einhergingen.

Eine Abnahme oder Entfernung von Tumorgewebsmasse als Folge cytostatischer, chirurgischer oder radiologischer Behandlung war mit einem Anstieg der Katalaseaktivität in der Leber verbunden.

Wenn im Rahmen cytostatischer Behandlung Medikamente mit hoher, systemischer Toxizität appliziert wurden, konnte trotz Rückgang von Tumormasse, ein Anstieg der Katalaseaktivität ausbleiben.

Weitere Untersuchungen, die von I. Zimmerer, H. Wesch, K. Wayss und M. Volm (24) durchgeführt werden, zeigten, daß Ratten mit Yoshida-Sarkomen erniedrigte Lebermangan-Spiegel aufwiesen, die mit der Leberkatalaseaktivität korreliert sind.

Eine ähnliche simultane Erniedrigung von Lebermangan und Katalase konnte auch nach intraperitonealer Applikation von Tumorextrakten nachgewiesen werden. Als Testtiere wurden Mäuse benutzt, denen Extrakte aus Yoshida-Sarkomen sowie Kontrollpräparate aus Muskel und Milz von Ratten in gleicher Dosierung gegeben wurden.

Die Abnahme von Mangan- und Katalasewerten in der Leber ist von der Dosis der getesteten Substanzen abhängig.

Die Mangan-Katalase-Korrelation, die in diesen Experimenten auftritt, läßt eine funktionelle oder strukturelle Beziehung zwischen dem Spurenelement und dem Enzym vermuten.

III. Meß- und Auswertungsmethoden

A. Messung:

(Methode Nach Bergmeyer)

Eine Leberprobeexzision wird innerhalb von 6 Stunden nach Entnahme wie folgt behandelt:

1. Versetzen mit Natrium-Phosphat puffer pH = 7,4
0,3 Gramm Leberfeuchtgewicht + 2,7 ml Phosphatpuffer.
(Verdünnung 1 : 10; die geringen Dichteunterschiede zwischen Lebergewebe und Phosphatpuffer dabei vernachlässigt.)
2. Homogenisieren dieses Gemisches mittels des Potter-Homogenisators bis zur Erreichung einer einheitlich gefärbten Suspension, in der keine festen Bestandteile mehr sichtbar sind.
3. Etwa 0,5 ml des Homogenats werden bei 15000 Umdrehungen pro Minute acht Minuten lang in der Ultrazentrifuge, Beckmann L 50, Rotor SW 39, zentrifugiert und der Überstand in ein sauberes, trockenes Reagenzglas überführt.

4. Dazu werden mit Hilfe von Mikropipetten

5 Mikroliter absoluten Äthylalkohol und

50 Mikroliter Triton-X-100 (10%)

gegeben, um eine möglichst vollständige Lyse der Mitochondrien zu erreichen.

Das Gemisch wird für ca. 20 Minuten in Eiswasser inkubiert.

5. Als Substrat verwenden wir eine Peroxidlösung mit einer Konzentration von 30 Millimol.

Dazu werden 0,08 ml "Perhydrol" Merk (30 %) auf 25 ml Natriumphosphatpuffer (50 mM, pH = 7,0) gegeben.

6. In zwei trockene, saubere Meßküvetten (Schichtdicke 1,000 cm) werden pipettiert:
2,0 ml Phosphatpuffer pH 7,0
1,0 ml der angesetzten 30-millimolaren Peroxidlösung.

Damit haben wir die für die Reaktion geforderte Peroxidekonzentration von 10 mM erreicht.

Die Lösung muß jeden Tag frisch angesetzt werden!

7. Während der eine Küvetteninhalt die Vergleichslösung darstellt, wird in der anderen durch Zugabe von 5 Mikroliter Enzymlösung die Reaktion gestartet.

Nach guter Durchmischung wird im Spektralphotometer, Beckman DK 2, bei 240 Nanometer die Extinktionsabnahme pro Zeiteinheit in der Meßküvette gegenüber der Vergleichslösung gemessen und graphisch aufgetragen.

Dabei sollte unbedingt darauf geachtet werden, daß das Gerät richtig vorgewärmt ist (mindestens 15 Minuten !), da anderenfalls Verschiebungen zwischen zwei hintereinander durchgeführten Aufzeichnungen und damit Fehler in der Auswertung entstehen können.

Bednartzig, Elisabeth

Station BI, Archivnr.: 78948

Diagn.: Cholecystitis



purety

Herkunft
origin

Lösungsm.
solvent

Konz. (mol/l)

Molarität (mol/l)
molarity

Schichtdicke (cm) 1
cell path length

Vergleich
reference

Schreibzeit-Einstellung
scanning time

1. 2 5 10 20 50

Skalenspreizung 2
scale expansion

Zeitkonstante (sec)
time constant

0.1 0.2 0.5

Empfindlichkeit 1
sensitivity

Messbereich

A Ext. % Transm.

Spalt 0.14 mm bei λ
slit

Wolfram - /H₂-Lampe
tungsten-/H₂-lamp

PbS Monel v.1

λ-Bereich
λ-range

Temperatur Raum
temperature

Substanz
inertgas

Datum 6.12.
date

Beobachter Wc
analyst

B. Auswertung:

Auf Seite 10 ist ein Beispiel für eine Meßkurve angeführt. Diagnose und andere Einzelheiten sind aus der Zeichnung ersichtlich.

Es bedeuten:

$\Delta t = t - t_0$: Das Meßintervall, in welchem die Extinktionsabnahme erfolgt.

$t_0 = 0$ t (= 60 Sekunden)

E_0 : Extinktion zur Zeit $t_0 = 0$

E : Extinktion zur Zeit t (= 60 Sekunden)

ΔE : $E_0 - E$ (Extinktionsabnahme im Zeitvall Δt)

Nach Bergmeyer (2) folgt die H_2O_2 -Spaltung etwa in den ersten 30 Sekunden dem Verlauf einer Reaktion I. Ordnung.

Wir bestimmen die Extinktionsabnahme in den ersten 60 Sekunden der Reaktion.

Da eine Reaktion I. Ordnung vorliegt, läßt sich die Meßkurve beschreiben durch die Beziehung:

$$E = E_0 \cdot e^{-kt}$$

"k" heißt Geschwindigkeitskonstante und gilt als direktes Maß für die Aktivität der Katalase in der Probe.

Durch Logarithmieren zur Basis 10 erhält man:

$$k' = \frac{2,3}{t} \cdot \log \frac{E_0}{E}$$

Bei einem Meßintervall von 60 Sekunden sowie unter Berücksichtigung der Gesamtverdünnung ergibt sich für "k" nach Schieder (1):

$$k = 2,3 \cdot \log \frac{E_0}{E} \quad (1)$$

Aufgrund der Tatsache, daß der Kinetikschreiber nie genau in der gleichen Höhe auf dem Papier für alle Messungen aufsetzt und daß mit der Bestimmung der Extinktionsabnahme erst 12 Sekunden (= 1 Kästchen) nach Aufsetzen des Schreibers begonnen wird, um oftmals auftretende anfängliche Schwankungen unberücksichtigt lassen zu können, erschien es vorteilhaft, die Formel wie folgt umzustellen:

$$k = 2,3 \cdot \log \frac{E_0}{E_0 - \Delta E} \quad (2)$$

E_0 stellt ein Maß für die Menge des umgesetzten, und damit der zur Zeit $t = 0$ tatsächlich vorliegenden Peroxidkonzentration in den Küvetten dar.

B 1. Bedeutung und Schwierigkeit der "k"-Bestimmung.

Die Bedeutung von "k" liegt darin, daß man einem Patienten einen ganz bestimmten k-Wert zuordnen kann. Für Kontroll- sowie für Karzinompatienten gibt es k-Wert-Intervalle (siehe näheres unter "Versuchsergebnisse").

Die Bestimmung von "k" erfolgt mit Hilfe von Formel (2).

Nach Schieder (1) wird einer Peroxidkonzentration von 10 mM in der Küvette (zur Zeit des Reaktionsbeginns) 30 Längeneinheiten auf dem Papier (3 Zoll) zugeordnet.

Die Annahme liegt darin begründet, daß E_0 als Maß für die in der Meßküvette anfänglich vorhandene H_2O_2 -Konzentration anzusehen ist.

$E_0 = 30$ wurde von Schieder als Ausgangswert für alle seine Messungen verwendet.

Beispiel:

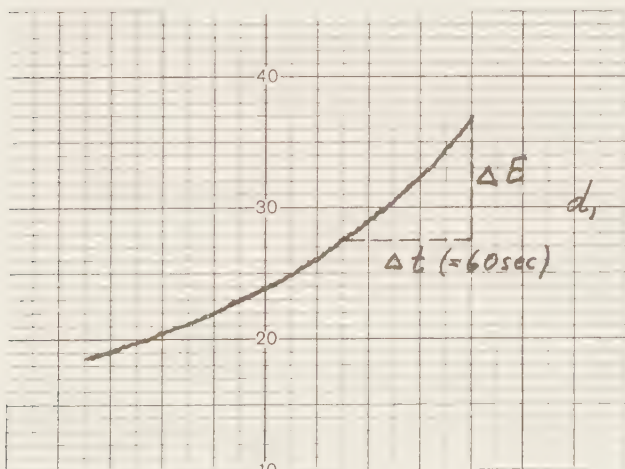


Abbildung d zeigt die Extinktionskurve einer Patientin mit Cholecystitis, gemessen am 13.9.72.

Dabei sind:

$$E_0 = 30 \quad \text{L.E.}$$

$$E = 9,5 \quad "$$

$$k = 2,3 \cdot \log \frac{30}{20,5} = 0,379$$

In Abschnitt "Versuchsergebnisse" zeigt es sich, daß dieser Wert eindeutig in den dort festgelegten Wertebereich für Karzinomträger einzu-reihen ist, wenn die Auswertung der Meßkurve in dieser Form durchge-führt wird.

Schieder setzte also eine Konstanz der Konzentration aller Reaktions-produkte voraus.

Im Zuge der nach Schieder durchgeführten Messungen konnte aber die Be-obachtung gemacht werden, daß die Geschwindigkeitskonstante "k" unter Beibehaltung von $E_0 = 30$ im Laufe der Zeit bei Kontroll- sowie bei Karzinompatienten kontiunierlich abnahm.

Darin liegt die Schwierigkeit der "k"-Bestimmung begründet.

Siehe dazu folgende Tabellen:

Mittelwerte der "k"-Werte von Kontrollpatienten, die in den folgenden Zeitintervallen bestimmt werden:

<u>Zeitintervall</u>	<u>mittlerer "k"-Wert</u>
25. 8.72 - 2.11.72	0,37
6.11.72 - 23. 1.73	0,21

Auch bei Karzinomträgern waren entsprechende Abnahmen von "k" zu ver-zeichnen:

<u>Zeitintervall</u>	<u>mittlerer "k"-Wert</u>
25. 8.72 - 2.11.72	0,213
6.11.72 - 23.1.73	0,139

Nach diesen Ergebnissen war ein Vergleich der "k"-Werte von Karzinomträgern mit denen der Kontrollpatienten nicht mehr möglich. Der mittlere "k"-Wert der Kontrollpatienten, bei denen die Katalase-Aktivität in der Zeit vom 6.11.72 - 23.1.73 gemessen wurde, ist niedriger als der der vom 25.8.72 - 2.11.72 bestimmten Karzinompatienten.

Eine Konzentrationsabnahme des "Perhydrol" Merk, welche bis zu diesem Zeitpunkt bei Raumtemperatur aufbewahrt wurde, hatte derartige Effekte auftreten lassen. Es stellte sich nämlich heraus, daß nach Erneuerung der H_2O_2 -Konzentration die Gesamttextinktion wieder bis auf 36 Längeneinheiten anstieg.

Damit konnte als bewiesen angesehen werden, daß die Konstanz der Substratkonzentration einen entscheidenden Faktor bei den Messungen darstellt.

Siehe Abbildung auf Seite 17.

Die Abbildungen a, b und c stellen Extinktionskurven von Patienten dar, die alle drei wegen gleichen Grundleidens, jedoch in größeren zeitlichen Abständen zueinander, operiert wurden.

Ihre gemeinsame Diagnose war: Ulcus ventriculi. Bei einem konnte intraoperativ noch ein weiterer, vom Grundleiden unabhängiger Befund erhoben werden.

Die Kurven unterscheiden sich aber in ihren Steigungen deutlich voneinander.

Abbildung a zeigt die Kurve für eine Messung, die am 25.8.72 durchgeführt wurde. Die Größe von E_0 beträgt hier 24 Längeneinheiten.

Die Messung zu Abb. b fand am 23.1.73 statt. E_0 war nur noch mit 15 Längeneinheiten zu bestimmen.

Nach Erneuerung des "Perhydrol" ³⁶Merk wurde die Messung zu Abb. c ausgeführt. E_0 war auf Längeneinheiten angestiegen.

Damit sollte gezeigt werden, daß innerhalb von ca. 5 Monaten ein erheblicher Konzentrationsverlust an Peroxid aufgetreten ist (9 Längeneinheiten auf der Extinktionsachse entsprechend).

Bei Annahme eines E_0 von 30 L.E. für alle drei Messungen wären die Ergebnisse sicher mit einem großen Fehler behaftet.

Da aber bei allen durchgeführten Messungen das Verhältnis der Geschwindigkeitskonstanten von Kontrollpatienten zu Karzinomträgern sich rein qualitativ so zeigte, daß die Leberkatalase bei Patienten mit malignen Tumoren erniedrigt war gegenüber Kontrollpatienten, die am gleichen Tag gemessen wurden, lag der Gedanke nahe, nicht eine konstante H_2O_2 -Konzentration bzw. einen konstanten Extinktionswert E_0 für alle Auswertungen anzunehmen, sondern diesen graphisch für jede einzelne Messung getrennt zu ermitteln.

Unter diesen Gesichtspunkten kam man bei der Auswertung der Kurven a, b und c zu folgendem Ergebnis:

$\alpha,$



$b,$



$c,$

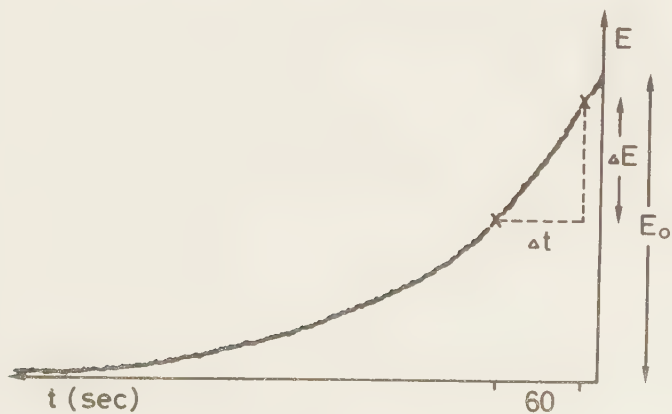


Abb. a,

$$\begin{aligned} E_0 &= 24 \text{ L.E.} \\ \Delta E &= 10 \text{ L.E.} \end{aligned}$$

Nach Formel (2), Seite 12 gilt:

$$k = 2,3 \cdot \log \frac{24}{14} = 0,537$$

Abb. b,

$$\begin{aligned} E_0 &= 15 \text{ L.E.} \\ \Delta E &= 6 \text{ L.E.} \\ k &= 2,3 \cdot \log \frac{15}{9} = 0,510 \end{aligned}$$

Abb c,

$$\begin{aligned} E_0 &= 36 \text{ L.E.} \\ \Delta E &= 14 \text{ L.E.} \\ k &= 2,3 \cdot \log \frac{36}{22} = 0,495 \end{aligned}$$

Später wird gezeigt, daß diese k-Werte dem Grundleiden der Patienten entsprechen und eindeutig in die Wertetabelle eingereiht werden konnten.

Schlußbetrachtung:

E_0 hat sich also mit der Zeit durch Konzentrationsänderung des Peroxids verändert. Folglich muß man E_0 für jede Messung bestimmen, um über den k-Wert zuverlässige Aussagen zu gewinnen.

Für E gilt die Beziehung:

$$E = E_0 \cdot e^{-kt} \quad (\text{siehe Seite 11})$$

also eine Exponentialfunktion, die für $t \rightarrow \infty$ gegen Null geht.

Für große Zeiten(z.B. $t=10$ Minuten) deckt sich die Kurve im wesentlichen mit der Zeitachse.Damit ist die x-Achse bekannt.Die y-Achse oder "Extinktionsachse" ist senkrecht zur x-Achse durch den Startpunkt gegeben.Damit hat man das Koordinatensystem und folglich auch E_0 festgelegt.

Als Beispiel siehe dazu Seite 10.

Kennt man E_0 ,dann verfährt man weiter wie auf Seite 11 beschrieben.

Da "k" nur vom Patienten abhängt,erhält man damit Werte,aufgrund dessen sich gewisse Aussagen machen lassen.

B 2. Fehlerbetrachtungen

1. Größe der Peroxidkonzentration in der Küvette:

Nach Bergmeyer(2) darf die Peroxidkonzentration in den Küvetten nicht größer als 10 Millimol sein. Die Gefahr der Herstellung einer zu konzentrierten Meßlösung kann dadurch umgangen werden, daß die entsprechende Menge an Konzentrat knapp bemessen wird. Andererseits ist auch die Herstellung einer stark verminderten Peroxidlösung zu vermeiden, da der Reaktionsmechanismus in der Weise verändert werden kann, daß der Ablauf nach den Gesetzen der ersten Ordnung nicht mehr exakt stattfindet und bei einer zu flachen Darstellung der Reaktionskinetik größere Fehler bei der Auswertung entstehen.

Es ist also darauf zu achten, daß die vorgeschriebene H_2O_2 -Konzentration möglichst genau angenähert wird, und zwar von unten her. Fehler, die hierbei entstehen, können durch die Bestimmung der tatsächlich vorliegenden Substratmenge auf graphischem Wege weitgehend eliminiert werden.

2. Pipettieren:

Der Genauigkeit des Pipettierens sind gewisse Grenzen gesetzt. Es müssen 0,08 ml 30%-ige Peroxidlösung auf 25 ml verdünnt werden. Dabei ist leicht einzusehen, daß ein Bruchteil eines Tropfens, der zusätzlich hinzukommt bzw. fehlt, eine verhältnismäßig große Konzentrationsänderung bezüglich des geforderten Wertes darstellt, bei dieser Art des Meßverfahrens jedoch kaum zu vermeiden ist.

3. Blasenbildung in den Küvetten.

Blasenbildungen in den Küvetten sind im Grunde nicht zu umgehen, da bei der Umsetzung Sauerstoff entsteht, der in Form von Blasen zum Teil an der Küvettenwand festhängt.

Größere Mengen an Blasen fallen dann in der Vergleichsküvette an, wenn diese über einen längeren Zeitraum hinweg, also für mehrere,

hintereinander auszuführende Messungen gemeinsam, verwendet wird, da der Zerfall des Peroxids in Abhängigkeit von der Zeit stattfindet.

Es ist also sinnvoll, bei mehreren hintereinander auszuführenden Versuchen jeweils immer auch den Vergleich zu erneuern.

C. Statische Berechnung

Das arithmetische Mittel

$$M_A = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$$

Standardabweichung der Werte:

$$s = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Wobei $\bar{x}$ den Mittelwert, x_i jeden einzelnen beliebigen Meßwert darstellt.

Die Berechnung erfolgte nach dem Test nach Student für nicht gepaarte Kollektive. Es wurden bestimmt :

n_x, n_y	Anzahl der Werte im Kollektiv
$\bar{x}, \bar{y}$	Arithmetische Mittel
s_x, s_y	Standardabweichungen der Werte
$s_{\bar{x}}, s_{\bar{y}}$	Standardabweichungen der arithmet. Mittel
$s_x + s_y$	Standardabweichungen beider Kollektive
$r_{\bar{x}} - r_{\bar{y}}$	Streuung der Differenzen der arithmet. Mittel
t	Student-t-Wert

IV. Eigene Untersuchungen

Nach der graphischen Bestimmung der Gesamtextinktion E_0 für jede Messung war es möglich, alle hieraus ermittelten Geschwindigkeitskonstanten in eine Wertetabelle einzuordnen, was bei Annahme eines konstanten Wertes von E_0 für alle Messungen nicht möglich gewesen wäre.

A. Probeexzisionen

Die Leberkatalasenaktivität wurde bei 77 Patienten bestimmt.

Das Kollektiv setzt sich aus 53 Kontrollpatienten und 24 Patienten mit malignen, vorwiegend intraabdominellen Tumoren zusammen.

Das Lebergewebe wurde bei der Laparotomie aus dem rechten Leberlappen entnommen und anschließend sofort aufgearbeitet. Die Geschwindigkeitskonstante "k" wurde auf 1 mg Leberfeuchtgewicht bezogen.

Eine zusätzliche Bestimmung des DNA-Gehaltes der Leber wurde im Rahmen der Schieder'schen Untersuchung durchgeführt. Eine größere Bedeutung für die Katalase konnte nicht erkannt werden und wurde deshalb in dieser Arbeit nicht mehr berücksichtigt.

Ebenso wurden Leberfermente, Bilirubin und andere Serumwerte nicht mehr mit der Katalasenaktivität in Relation gesetzt, da auch diese hierfür offensichtlich keine Spezifität besitzen.

Bei allen Probeexzisionen wurde das Gewebe auch histologisch untersucht.

Karzinomgruppe:

Bei der Karzinomgruppe, die sich aus 24 Patienten zusammensetzt, handelt es sich um 15 Magenkarzinome, 3 Colonkarzinome, 2 Ösophaguskarzinome, 1 Pankreaskarzinom, 1 Schilddrüsenkarzinom, 1 Seminom und 1 Ovarialkarzinom.

Die LKA-Werte lagen zwischen $0,159$ und $0,402 \text{ sec}^{-1}/1 \text{ mg FG}$. Eine Ausnahme bildete ein Patient mit einem Magenkarzinom, dessen LKA-Wert mit $0,428 \text{ sec}^{-1}/1 \text{ mg FG}$ im Kontrollpatientenbereich lag. Die Verteilung der einzelnen Werte geht aus Tabelle 1 hervor.

Tabelle 1

Leberkatalaseaktivität bei Karzinompatienten
bezogen auf die Geschwindigkeitskonstante $k/1 \text{ mg}$
Feuchtgewicht

Nr.	Name	Alter	Geschlecht	Grundleiden	LKA in $k \text{ (sec}^{-1}\text{)}$ 1 mg FG
1	O.F.	51	♀	Kolonkarzinom	0,384
2	A.D.	43	♂	Magenkarzinom	0,288
3	S.R.	62	♂	Kardiakarzinom	0,207
4	L.M.	46	♀	Kardiakarzinom	0,159
5	B.P.	53	♂	Magenkarzinom	0,405
6	L.L.	50	♀	Kolonkarzinom	0,252
7	B.F.	69	♂	Kolonkarzinom	0,223
8	F.H.	70	♂	Kardiakarzinom	0,356
9	M.K.	45	♀	Schilddrüsenkarzinom	0,223
10	A.H.	40	♂	Kardiakarzinom	0,258
11	L.L.	55	♀	Magenkarzinom	0,402
12	F.H.	58	♂	Oesophaguskarzinom	0,309
13	M.A.	67	♂	Magenkarzinom	0,322
14	B.H.	39	♂	Seminom	0,267
15	S.K.	49	♂	Magenkarzinom	0,232
16	T.X.	48	♂	Oesophaguskarzinom	0,324
17	G.B.	62	♀	Magenkarzinom	0,428
18	K.O.	62	♀	Ovarialkarzinom	0,344
19	W.B.	61	♂	Magenkarzinom	0,267
20	D.R.	46	♂	Magenkarzinom	0,340
21	E.I.	44	♂	Magenkarzinom	0,384
22	R.O.	56	♂	Magenkarzinom	0,362
23	W.E.	58	♂	Magenkarzinom	0,388
24	K.L.	48	♂	Pankreaskarzinom	0,315

$$\bar{y} = 0,310$$

$$s_y = 0,0742$$

Tabelle 2

Karzinompatienten mit besonderem pathologisch-histologischen Befund der Leber

Nr.	Name	D i a g n o s e	histol. Befund	$k \frac{\text{sec}^{-1}}{1 \text{ mg FG}}$
1	K.L.	Pankreaskarzinom	Verschlußikterus	0,315
2	B.F.	KolonKarzinom	Leberzirrhose	0,223
3	M.A.	Magenkarzinom	starke Epithel- verfettung	0,322

Bei drei Patienten bestanden zusätzlich pathologisch-histologische Veränderungen der Leber (Tabelle 2).

Kontrollgruppe:

Bei der Kontrollgruppe, die aus 53 Patienten besteht, lagen in erster Linie folgende Erkrankungen vor:

Cholelithiasis, Gallenblasenempyem, Papillenstenose, chronische Pankreatitis, Leberzirrhose, Magen- und Zwölffingerdarmgeschwüre. Die LKA-Werte bewegten sich zwischen $0,259$ und $0,592 \text{ sec}^{-1}/1 \text{ mg FG}$. Die Verteilung der Werte geht aus Tabelle 3 hervor. Bei den Patienten mit besonders niedrigen LKA-Werten lagen Erkrankungen der Leber, des Pankreas oder der ableitenden Gallenwege vor (Tabelle 4). Auch histologisch wiesen diese Patienten fast alle pathologische Veränderungen der Leber auf (Tabelle 5).

Es erscheint einleuchtend, daß bei einem Verlust von Leberparenchym, wie er im Rahmen einer Leberzirrhose entsteht, auch die Katalase eine Verminderung erfahren muß. Wie auf Seite 2 erwähnt, ist die Aktivität der Katalase im Bindegewebe am geringsten von allen Gewebearten.

Da aber auch bei entzündlichen Vorgängen im Leber-Galle-Bereich eine Aktivitätsminderung bis in den Karzinombereich hinein zu beobachten war, liegt der Schluß nahe, daß die Leberkatalase auch bei Vorhandensein entzündlicher Elemente im Parenchym im Sinne einer Depression beeinflußt wird.

Welcher Mechanismus dieser Aktivitätsminderung zugrunde liegt, sei es eine chemische Reaktion von entzündlichen Infiltraten mit der Katalase, woraus eine Inaktivierung resultieren könnte, oder ein anderer unbekannter Vorgang, bliebe noch zu klären.

Die Tatsache, daß auch bei mehreren Patienten mit Erkrankungen des Pankreas eine Katalasedepression zu verzeichnen war, bedarf ebenfalls noch weiterer Untersuchungen.

Tabelle 3

LKA -Bestimmung bei Kontrollpatienten bezogen auf
die Geschwindigkeitskonstante k/1 mg Feuchtgewicht

Nr.	Name	Geschl.	Alter	Grundleiden	LKA in -1 k $\frac{\text{sec}}{1 \text{ mg FG}}$
1	E.W.	♀	45	Cholezystitis	0,356
2	A.E.	♂	47	Ulcus ventriculi et duodeni	0,436
3	A.D.	♂	48	Leberzirrhose	0,267
4	I.H.	♀	35	Cholezystitis	0,315
5	D.E.	♀	38	Cholezystitis	0,477
6	L.M.	♂	32	Pankreaszyste	0,288
7	E.E.	♂	48	Magenulcus	0,415
8	K.W.	♂	45	Magenulcus	0,442
9	W.K.	♂	50	perf. Gallenblase	0,260
10	D.A.	♀	34	Cholezystitis	0,490
11	E.F.	♀	48	Cholezystitis	0,469
12	F.H.	♂	55	Pankreatitis	0,469
13	B.A.	♂	66	Ulcus ventriculi	0,469
14	O.F.	♂	65	Leberzirrhose	0,259
15	D.B.	♂	46	Cholezystitis	0,487
16	W.I.	♂	55	Cholezystitis	0,478
17	G.H.	♂	45	Pankreaszyste	0,510
18	W.G.	♂	34	Cholelithiasis	0,567
19	X.Y.	♂	66	Ulcus ventriculi	0,533
20	H.I.	♂	45	Ulcus ventriculi	0,440
21	I.W.	♂	44	Ulcus ventriculi et duodeni	0,535
22	D.A.	♀	43	Cholezystitis	0,510
23	R.B.	♂	38	Papillenstenose	0,308
24	D.B.	♂	45	Anastomosenuleus	0,538
25	C.D.	♂	66	Magenulcus	0,487
26	B.C.	♂	69	Papillenstenose	0,535
27	D.E.	♂	70	Ulcus duodeni	0,586
28	J.K.	♂	69	explorative Laparotomie	0,467
29	M.H.	♂	42	Pankreaszyste	0,358
30	K.L.	♂	56	Ulcus ventriculi	0,446
31	O.P.	♂	44	Magenulcus	0,482
32	Q.R.	♂	56	Magenulcus	0,559
33	R.P.	♂	66	Papillenstenose	0,427
34	S.U.	♂	69	Ulcus ventriculi	0,476
35	B.A.	♂	70	Ulcus ventriculi	0,454
36	C.A.	♂	66	Cholelithiasis	0,482
37	W.S.	♂	48	Magenulcus, Leberzirrhose	0,326
38	T.W.	♂	55	Magenulcus	0,467
39	O.F.	♂	44	Cholelithiasis	0,465
40	T.O.	♂	56	Ulcus ventriculi	0,590
41	K.O.	♂	34	Cholezystitis	0,521
42	S.T.	♂	32	Pankreatitis	0,330
43	O.K.	♂	57	Cholezystitis	0,562
44	E.B.	♂	30	Stauungsikterus	0,391
45	T.W.	♂	55	Magenpolyp	0,592
46	O.K.	♂	47	Cholezystitis	0,508
47	A.F.	♂	46	chron. Pankreatitis	0,347
48	J.K.	♂	53	Ulcus duodeni	0,566
49	M.S.	♂	53	Gallenblasenempyem	0,339
50	L.K.	♂	45	Ulcus duodeni	0,531
51	I.K.	♂	55	Ulcus duodeni	0,558
52	K.K.	♂	34	Ulcus duodeni	0,442
53	L.K.	♂	66	Ulcus ventriculi	0,485

Tabelle 4

Kontrollpatienten mit LKA-Werten im Karzinom-
bereich

Nr.	Name	Alter	Geschlecht	Grundleiden	LKA in k sec^{-1}
					1 mg FG
1	E.W.	45	♀	Cholezystitis	0,356
2	A.D.	48	♂	Leberzirrhose	0,267
3	I.H.	35	♀	Cholezystitis	0,315
4	L.M.	32	♂	Pankreaszyste	0,288
5	W.K.	50	♂	Magenulcus	0,260
6	O.F.	65	♂	Leberzirrhose	0,259
7	R.B.	38	♀	Cholezystitis	0,308
8	M.H.	42	♂	Pankreaszyste	0,358
9	W.S.	48	♂	Magenulcus, Leberzirrhose	0,326
10	S.T.	32	♀	Pankreatitis	0,330
11	E.B.	30	♂	Stauungsikterus	0,391
12	A.F.	46	♂	chron. Pankreatitis	0,347
13	M.S.	53	♀	Gallenblasenempym	0,339

Tabelle 5

Kontrollpatienten mit besonderem pathologisch-histologischen Befund
der Leber

Nr.	Name	Diagnose	histol. Befund	LKA in
				$k \frac{\text{sec}^{-1}}{1 \text{ mg FG}}$
1	E.W.	Cholezystitis	entzündliche Mitreaktion	0,356
2	A.D.	Leberzirrhose	Leberzirrhose	0,267
3	L.M.	Pankreaszyste	Cholangitis	0,288
4	W.K.	Magenulcus	Hepatitis	0,260
5	O.F.	Leberzirrhose	Leberzirrhose	0,259
6	M.H.	Pankreaszyste	Cholangitis	0,358
7	W.S.	Magenulcus, Leberzirrh.	Leberzirrhose	0,326
8	S.T.	Pankreatitis	Cholangitis	0,330
9	E.B.	Stauungsikterus	Verschlußikterus	0,391
10	M.S.	Gallenblasenempyem	Leberzirrhose	0,339

VII. Statistische Auswertung

(T-Test nach Student für nicht gepaarte Daten)

A. Probeexzisionen: Leberkatalase-Aktivität ausgedrückt durch den
"k"-Wert.

1. Kontrollpatienten:

Arithmetisches Mittel: $\bar{X} = 0,455$

Standardabweichung der
Werte: $s_x = 0,0911$

Standardabweichung der
arithm. Mittel: $s_{\bar{x}} = 0,0125$

2. Karzinomträger:

Arithmetisches Mittel: $\bar{Y} = 0,310$

Standardabweichung der
Werte: $s_y = 0,0742$

Standardabweichung der
arithmet. Mittel: $s_{\bar{y}} = 0,0155$

Student-t-Wert:

$$t = 6,708$$

Besprechung der Ergebnisse

Man kann also generell aussagen, daß in dieser Meßreihe die Katalaseaktivität in der Leber von Karzinomträgern gegenüber in der von Kontrollpatienten immer erniedrigt ist. Sie liefert keine falschen, negativen Ergebnisse, während sie bei entzündlichen Erkrankungen der Leber und der Bauchspeicheldrüse auch erniedrigt sein kann. Solche Erkrankungen müssen differentialdiagnostisch abgegrenzt werden. Parenchymreaktionen der Leber oder Veränderungen desselben können durch die histologische Untersuchung abgeklärt werden. Jedoch ist bei z.B. nachgewiesener Lebercirrhose, die immer von einem Katalaseabfall begleitet war, ein Karzinom keineswegs ausgeschlossen. Lebercirrhose und ein Karzinom können durchaus nebeneinander vorliegen, ohne daß man mit Hilfe des k-Wertes eine Unterscheidung treffen konnte.

Die Größe der Aktivitätsminderung ist dafür kein Indiz.

Die Tatsache, daß eine Katalasedepression im Lebergewebe bei Vorhandensein maligner Tumoren auftritt, kann im Vergleich mit Arbeiten mehrerer Autoren, die auf Seite 5 - 7 kurz beschrieben wurden, demnach als bestätigt angesehen werden.

Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß der k-Wert des Patienten mit einer histologisch nachgewiesenen Fettleber als Nebebefund zwar erniedrigt ist gegenüber denen von benignen Erkrankungen, sich jedoch noch im definierten "Normalbereich" befindet.

Aus der Zusammenstellung konnte als Grenze zwischen Patienten mit malignen Tumoren und solchen ohne Neoplasmen ein Wert für "k" von

0,410

definiert werden.

Es wurde folgende Festlegung getroffen:

$k < 0,410$ Karzinombereich

$k > 0,410$ Normalbereich

Eine obere bzw. untere Grenze anzugeben, war im Rahmen dieser Untersuchungen nicht möglich.

F. Leberstanzbiopsien

Um Voraussetzungen für eine evtl. diagnostische Anwendung dieses Verfahrens zur Früherkennung von Neoplasmen zu schaffen, muß der Entnahmemodus von chirurgischen Eingriffen im Adomen unabhängig gemacht werden.

Dies' kann durch die Leberblindpunktion mit Hilfe der Menghininadel erreicht werden.

Für die folgenden Messungen wurde das Material auf diese Weise, teils bei geöffnetem, teils bei geschlossenem Abdomen durch die Haut, gewonnen. Der hierbei erhaltene Parenchymzylinder wog im Durchschnitt 20 Milligramm, d.h. 1/15 der Masse, die bei der Aufarbeitung von Probeexzisionen verarbeitet werden konnten.

Aufgrunddessen mußte das ursprüngliche Verfahren der Aufbereitung in sinnvoller Weise abgehandelt werden. Die Änderungen bezogen sich im wesentlichen auf die Verdünnungsverhältnisse.

Bei den vorhergehenden Messungen wurden zu der Probe zum Homogenisieren 2,7 ml Puffer gegeben, was einer Verdünnung von 1 : 10 entspricht. Bei den folgenden wird eine Stanzbiopsie mit 0,72 ml Puffer versetzt. Dies entspricht einer Verdünnung von 1 : 37.

Um zur Messung der Katalaseaktivität die gleiche Enzymmenge zu verwenden, wurden statt 5 Mikroliter Enzymlösung 20 Mikroliter zum Start der Reaktion einpipettiert. Dies ist deshalb notwendig, da Enzym und Substrat in ganz bestimmten Verhältnis stehen müssen, damit optimale Meß- und Reaktionsbedingungen gewährleistet sind. Bei Verwendung von 20 Mikroliter Enzymlösung wird dieser Forderung, abgesehen von geringen Veränderungen, Rechnung getragen.

Fehlerbetrachtung:

Es müßten, um genau die gleiche Enzymmenge, wie bei den Probeexzisionen zur Reaktion zu bringen

$$\left(\frac{1}{10} = \frac{x}{37}\right) \cdot 5 \quad x = 3,7 \quad 5 \cdot 3,7 = 18,5 (\mu\text{l})$$

einpipettiert werden. Praktisch werden also 1,5 μl mehr verwendet.

Das entspricht knapp 9 % der zuvor verwendeten Enzymmenge.

Da aber alle nachfolgenden Messungen mit diesem Volumen durchgeführt werden und die Ergebnisse zudem getrennt von den früheren betrachtet werden, kann diesbezüglich kaum ein Fehler entstehen.

Nach diesem Verfahren wurden die folgenden 26 Leberpunktate gemessen und ausgewertet.

Karzinomgruppe:

Die Karzinomgruppe besteht aus 11 Patienten, von denen bei 5 ein Rectumkarzinom, bei 3 ein Magenkarzinom, bei je ein Colonkarzinom, ein Korbus Hodgkin und ein malignes Melanom nachgewiesen wurde.

Die LKA-Werte lagen zwischen 0,100 und 0,480, wobei der obere Grenzwert dem malignen Melanom zugeordnet war und weit vom Mittelwert der übrigen Konstanten abweicht. Verteilung siehe Tabelle 6 !

Eine histologische Untersuchung der Punktate war wegen der geringen Masse nicht möglich.

Kontrollgruppe:

Bei der Kontrollgruppe handelt es sich um 15 Patienten, bei denen folgende Erkrankungen zugrunde lagen:

- 8 Duodenal- oder Magenulcera
- 2 Cholelithiasis
- 1 familiäre Darmpolyposis
- 1 chronische Pankreatitis
- 1 postale Hypertension
- 1 Zustand nach operierten Sigmakarzinom, und 1 ohne Befund

Die LKA-Werte bewegten sich zwischen 0,143 und 0,364.

Zusammenstellung siehe Tabelle 7 !

Dabei muß folgendes beachtet werden:

Besprechung der Ergebnisse:

Es trat, nachdem 13 Messungen ausgeführt worden waren, am Spektralphotometer ein Defekt auf, der in einem Reparaturingriff behoben werden mußte. Es vergingen ca. 8 Wochen, bis die nächste Meßreihe begonnen werden konnte. Danach konnte bei den übrigen Versuchen eine Verschiebung des mittleren k-Wertes gegenüber den ersten 13 beobachtet werden.

Die Relation zwischen Karzinomträgern und Kontrollpatienten blieb jedoch innerhalb jeder Meßreihe erhalten. Die Katalaseaktivität in der Leber von Trägern maligner Tumoren war gegenüber der von benignen Erkrankungen erniedrigt. Eine Signifikanz ist ebenfalls gegeben. Es mußte aber für die Meßreihe, die vor dem Defekt am Gerät ausgeführt wurde, ein anderer Grenzwert für "k" zwischen Patienten mit Karzinomen und solchen ohne definiert werden, als für die nach der Reparatur gemessen. Als Ursache hierfür könnte eine Verunreinigung der Reagentien durch Schwermetallionen angenommen werden, die aufgrund der längeren Untersuchung der Meßreihe derart stark zur Geltung kommt.

Tabelle 6

Leberkatalaseaktivität bei Karzinomträgern

Nr.	Name	Alter	Geschlecht	Grundleiden	LKA in k ($\frac{\text{sec}^{-1}}{1 \text{ mg FG}}$)
1	N.R.	46	♂	mal. Melanom am Schädeldach	0,480
2	M.R.	49	♀	Rectum-Ca	0,258
3	T.H.	52	♂	Magen-Ca	0,290
4	M.G.	55	♂	Magen-Adeno-Ca	0,295
5	A.H.	22	♀	Morb. Hodgkin	0,143
6	A.S.	48	♂	Rectum-Ca	0,100
7	E.K.	52	♂	Magen-Ca	0,118
8	M.A.	58	♂	Rectum-Ca	0,195
9	L.S.	55	♀	Rectum-Ca	0,210
10	H.P.	61	♀	Colon-Ca	0,197
11	T.H.	67	♂	Rectum-Ca.	0,214

Tabelle 7

Kontrollpatienten

Nr.	Name	Alter	Geschlecht	Grundleiden	LKA in
					k ($\frac{\text{sec}}{1 \text{ mg F}}$)
1	G.W.	57	♂	Ulcus ventr.	0,320
2	L.P.	48	♂	fam. Darmpolyposis	0,322
3	W.M.	51	♂	Ulcus duod.	0,326
4	M.B.	58	♀	Cholelithiasis	0,364
5	G.E.	50	♂	Ulcus duod.	0,342
6	E.M.	53	♂	Ulcus duod.	0,364
7	W.H.	56	♂	Ulcus duod.	0,352
8	L.G.	51	♂	Ulcus duod.	0,352
9	T.A-H	55	♂	chron. Pankreatitis	0,285
10	Z.H.	48	♂	Cholelithiasis	0,250
11	K.H.	46	♂	portale Hypertension	0,143
12	Sch.K.	44	♂	Magenulcus	0,302
13	A.G.	52	♂	Zust. nach operiertem Sigma-Ca, beim "Second Look" Lebermetastase	0,278
14	W.G.	39	♂	Ulcus duod.	0,299
15	L.H.	42	♀	ohne Befund	

B. Stanzbiopsien: LKA ausgedrückt durch den "k"-Wert

1. Kontrollpatienten:

Arithmetisches Mittel: $\bar{x}_1 = 0,321$

Standardabweichung der
Werte: $s_{x_1} = 0,070$

Standardabweichung der
arithm. Mittel: $s_{\bar{x}_1} = 0,0175$

2. Karzinomträger:

Arithmetisches Mittel: $\bar{y}_1 = 0,202$

Standardabweichungen der
Werte: $s_{y_1} = 0,0671$

Standardabweichung der
arithm. Mittel: $s_{\bar{y}_1} = 0,0212$

Student-t-Wert: $t_1 = 4,265$

Besprechung der Ergebnisse:

Die Abnahme des mittleren k-Wertes bei den Funktionen gegenüber den Biopsien könnte dadurch eingetreten sein, daß bei der Verarbeitung von derart geringen Gewebemengen (20 mg) Verluste durch Austrocknung der Probe und beim Homogenisieren (Gewebe, das an der Glaswand zurückbleibt) erheblich stärker ins Gewicht fallen, als bei der Aufbereitung von 300 mg.

Möglicherweise liegt die weniger stark ausgeprägte Aktivitätsminderung beim Karzinompatienten gegenüber Nicht-Karzinompatienten auch darin begründet.

Die Abnahme des mittleren k-Wertes in der zweiten Meßreihe könnte durch Verunreinigung der verwendeten Reagentien eingetreten sein.

Zwei Besonderheiten der letzten Meßreihe, die noch erwähnenswert erscheinen:

1. Auch bei Morbus Hodgkin liegt die Geschwindigkeitskonstante der Reaktionskurve eindeutig im definierten Karzinombereich.
2. Der k-Wert des Patienten, bei dem der Primärtumor (Sigma-Ca) entfernt wurde, liegt im Normalbereich, obwohl beim "Second Look" eine Lebermetastase vorhanden war.

Inwieweit der Grad der Metastasierung und die Größe des Primärtumors die Katalase beeinflusst, konnte nicht untersucht werden.

Es ist jedoch aus der Arbeit von Kiyota Oh-Uti ersichtlich, daß ein Zusammenhang zwischen Katalaseaktivität und Größe und Ausdehnung des Karzinoms nicht gegeben war.

Eine Erniedrigung der Katalaseaktivität in der Leber von Karzinomträgern gegenüber der in Kontrollpatienten konnte hingegen in allen darüber verfaßten Arbeiten nachgewiesen werden.

V. Diskussion

In der Arbeit Schieders sowie in der vorliegenden konnte die Aussage, daß die Aktivität der Katalase in der Leber von Patienten mit einem Malignom gegenüber solchen ohne Neoplasmen erniedrigt ist, im wesentlichen erhärtet werden.

Eine Schwierigkeit stellten dabei Patienten mit entzündlichen oder degenerativen Erkrankungen von Leber, Galle und des Pankreas dar. In vielen Fällen konnte auch bei derartigen Erkrankungen eine Katalase-depression im Lebergewebe nachgewiesen werden. Während Parenchymreaktionen der Leber relativ einfach aus der Probe histologisch abgeklärt werden können, ist die Diagnostik von Pankreaserkrankungen oft mit einem weit größeren Aufwand verbunden.

Normale LKA-Werte bei Karzinompatienten sind sehr selten.

Bei Vorlage einer Aktivitätsminderung der Katalase in der Leber kann nach Nachweis einer der zuletzt genannten Erkrankungen die gleichzeitige Anwesenheit eines Malignoms keineswegs ausgeschlossen werden; dies müßte vielmehr durch einen anderen Eingriff abgeklärt werden. Die Versuche mit Leberstanzbiopsien haben gezeigt, daß das Material für Aktivitätsmessungen auch in ambulant durchführbaren Eingriffen entnommen werden kann. Das ursprüngliche Verfahren mußte dazu leicht abgewandelt werden. Die Auswertungen zeigen, daß qualitativ die gleichen Ergebnisse wie bei der Verwendung ungleich größerer Mengen zu verzeichnen waren.

Zur Vermeidung größerer Fehler bei Messung und Auswertung können folgende Vorschläge gemacht werden:

1. Ausreichende Vorwärmung des Gerätes.
2. Graphische Bestimmung der tatsächlich vorliegenden Peroxidkonzentration in den Küvetten für jede einzelne Messung.
Kurve auslaufen lassen, bis die Endextinktion deutlich genug abgelesen werden kann.
3. Erneuerung der Vergleichslösung bei allen hintereinander auszuführenden Messungen, um für jede Aufzeichnung die gleiche Ausgangsbasis zu schaffen. Versuche möglichst bei konstanter Raumtemperatur ausführen. Eine Messung unter Kühlung wäre sicher vorteilhaft, da sich die Erwärmung des Photometers auch auf den Küvetteninhalt

gesparten kann.

4. Aufbewahren des "Ferhydrol" Merk unter Kühlung und wöchentliches Erneuern desselben zur Vermeidung größerer Konzentrationsverluste. Reagenzien, Glasgefäße und Geräte sollten sich in einwandfreien Zustand befinden. Eine Verunreinigung durch Schwermetallionen sollte unter allen Umständen vermieden werden, da diese, wie auch bei anderen Enzymen nachzuweisen ist, die Aktivität der Katalase hemmen.

VI. Zusammenfassung

Bei zahlreichen experimentellen und vereinzelten klinischen Untersuchungen konnte bisher eine Depression der Katalaseaktivität bei Tumorträgern bestätigt werden. Die zugrunde liegenden unterschiedlichen Auswertungsverfahren und die verschieden definierten Einheiten der LKA erschweren aber einen direkten Vergleich dieser Arbeiten. Wir konnten im Rahmen unserer Untersuchungen eine signifikante LKA-Depression bei Tumorträgern nachweisen. Allerdings zeigte sich, daß bei entzündlichen oder degenerativen Erkrankungen der Galle, Leber und Bauchspeicheldrüse die LKA auch stark erniedrigt war. Diese Erkrankungen müssen deshalb differentiadiagnostisch ausgeschlossen werden. dagegen sind normale LKA-Werte bei Karzinompatienten sehr selten. Die Versuche mit Leberstanzbiopsien haben gezeigt, daß für die Aktivitätsmessungen auch in ambulant durchführbaren Eingriffen genügend Material gewonnen werden kann. Das ursprüngliche Verfahren mußte dazu leicht abgewandelt werden. Die Auswertungen zeigten, daß qualitativ die gleichen Ergebnisse wie bei der Verwendung ungleich größerer Mengen von Lebergewebe zu verzeichnen waren.

Eine abschließende Beurteilung, inwieweit die Bestimmung der LKA zu einem Hilfsmittel in der Tumordiagnostik werden kann, ist auf Grund der bis jetzt vorliegenden insgesamt spärlichen klinischen Untersuchungen noch nicht möglich. Insbesondere erscheint es notwendig, an einem größeren Krankengut der Differentialdiagnose der LKA-Depression bei gutartigen Erkrankungen nachzugehen.

VII. Literatur

- (1) G. Schieder Bestimmung der Katalaseaktivität im Leber-
gewebe D 29, Inaugural-Dissertation 1975
- (2) H. U. Bergmeyer Katalase
Methoden der enzymt. Analyse
1. Auflage (1962), 885-894
- (3) H. Heller Bedeutung der Katalase für die Praxis
Med. Welt 20 (1969) 2482
- (4) O. Loew U.S. Dept. Agr. Report Nr. 68, 47 (1901)
- (5) Wolff, J. E. Compt. rend. 152, 729 (1911)
Stöcklin
- (6) P. Waentig Fermentforschung I, 165 (1914)
- (7) M. Tsuchikashi Biochem. Z. 171, 314 (1926)
- (8) O. Warburg Biochem. Z. 136, 266 (1923)
- (9) S. Hennichs Ber. 59, 218 (1926)
- (10) H. v. Euler Ann. 452, 158 und 455, 9 (1927)
K. Josephson
- (11) K. Zeile, H. Hell- Z. physiol. Chemie 192, 171 (1930)
ström, Hope-Seyler's
- (12) J.B. Sumner, J. biol. Chemistry 121, 417 (1930)
A.L. Dounce
- (13) R.K. Bonnichsen Arch. Biophys. 12, 83 (1947)
- (14) D. Herbert Biochem. J. 43, 203 (1948)
J. Pinsent
- (15) M. Laskowski Science 94, 615 (1941)
J.B. Sumner

- (16) Z. Aener Arkiv. Kemi Mineral. Geol. 16 A, Nr. 6 (1942)
- (17) R. K. Bonnichsen Act a,chem. Scand. 1, 114 (1947)
- (18) I. Kiricuta Die Aktivität der Leberkatalase bei
K. Gross Kranken mit malignen Tumoren
G. Simu Onkol. Inst. Cluj, Rumän., Z. ges. inn.
V. Popescu Med. 19, 711 - 714 (1964)
- (19) W. Nakahara The newer concept of cancer toxin,
F. Fukuoka Advanc. in cancer research, Bd. 5, 158 - 177
(1958)
- (20) R.F.Kampschmidt Cancer research, 23, 751 (1963)
H.F.Schulz
- (21) J.P. Greenstein Biochemistry of Cancer Academ. Press.
Inc. Publist. New York (1954)
- (22) Kiyota Oh-Uti Liver Catalase Activity of Patients with Gastric
Kunihiro Maki Cancer The Toboku Journal of Experimental
Junto Ito Medicina Vol. 67, Nos. 2-3, 1958
- (23) T. Ohnuma Hepatic Catalase Activity in Advanced Human
G. Maldia Cancer
J.F. Holland Cancer Research 26, Part 1, 1806-1818, Aug. 1966
- (24) J. Zimmerer Korrelierte Erniedrigung
H. Wesch von Mangan und Katalase in der Leber
K. Wayss Z. Krebsforschung 79, 39 - 48 (1973)
M. Vohm Springer Verlag 1973.

LEBENS L A U F

Ich, Werner Weiß, geb. am 22. 7. 1948 in Erlangen, trat nach 4-jähriger Volksschulzeit in Uttenreuth in das Ohm-Gymnasium Erlangen ein. In dieser Anstalt legt ich im Juli 1967 das Abitur ab.

Vom Oktober 1967 bis April 1968 war ich in der Chirurgischen Universitätsklinik Erlangen als Pflegehelfer tätig.

Im Sommersemester 1968 und im Wintersemester 1968/69 war ich an der Universität Erlangen im Fach Chemie eingeschrieben.

Am 8. April 1969 wurde ich zum Wehrdienst einberufen und am 31.8.1969 wieder aus der Bundeswehr entlassen.

Zum Wintersemester 1969/70 begann ich an der Universität Würzburg das Studium der Medizin und legte dort nach zwei Semestern im Oktober 1970 das Vorphysikum ab.

Nach einem Wechsel des Studienortes setzte ich im Wintersemester 1970/71 das Studium an der Universität Erlangen.Nürnberg fort, wo ich im März 1972 das Physikum und im Juli 1975 das Staatsexamen bestand.

Mit der vorliegenden Arbeit begann ich im August 1972 und befinde mich z.Z. als Medizinalassistent in der Chirurgischen Universitätsklinik Erlangen.

Erlangen, im Oktober 1976

Werner Heinz Georg W e i ß

Copy-Center 2000

852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131-26197